

学位論文要旨

氏名 花山 雅一

論文名 非アルコール性脂肪肝炎(NASH)では腸管におけるパルミチン酸の吸収が亢進し、吸収されたパルミチン酸は肝線維化に影響する

学位論文の要約

[背景と目的]

非アルコール性脂肪肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease; NAFLD)は、近年増加している慢性肝疾患である。NAFLD には肝臓での脂肪沈着のみがみられる非アルコール性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver; NAFL)と、非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis; NASH)があり、NASH では脂肪沈着に加えて肝線維化が認められ、肝硬変および肝細胞がんに進展する。NASH の発症と進展には様々な因子が関連するが、その病態はまだ明確ではなく、根治的治療法も確立されていない。申請者らは先行研究で、NASH 患者において健常者と比較して、長鎖脂肪酸であるパルミチン酸の腸管での吸収が亢進し、直接肝臓に流入している可能性を同定した。パルミチン酸は脂肪毒性を有しており、NASH の病態への関与が報告されるが、肝臓に直接流入する血中のパルミチン酸濃度の変化およびパルミチン酸が肝臓におよぼす影響について臨床検体で直接確認することは困難である。そこで NASH 疾患モデルラットを作成し、腸管でのパルミチン酸吸収の変化を評価し、パルミチン酸の肝臓への流入が肝臓の線維化に及ぼす影響及び NASH の病態との関連を明らかとすることを研究の目的とした。

[材料と方法]

- 2012年1月から2015年8月の間に同意が得られた NASH 患者 41 人と健常人 39 人を対象に空腹時と食後 2 時間後に採血し、血中の脂肪酸分画をガスクロマトグラフィーで測定した。
- 8 週齢の Sprague Dawley (SD)ラットに高脂肪食(HFD)を摂取させた NAFL モデルと、高脂肪高コレステロール食(HFCD)を摂取させた NASH モデルを作成した。
- 麻酔下にラットの十二指腸および門脈にカニューレを留置し、十二指腸のカニューレからエマルジョン化したパルミチン酸を持続的に注入した。続いて門脈に留置したカニューレから経時的に採血を行い、腸管における長鎖脂肪酸吸収を反映する因子であるカイロミクロンの血液中の粒子数やパルミチン酸濃度の測定をゲル濾過高速液体クロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィーを用いて実施した。
- ラットの腸管及び肝臓組織を採取し、脂肪酸吸収あるいは肝線維化に関連する細胞内分子を real-time RT-PCR 法、Western blotting 法を用いて測定した。

氏名 花山 雅一

5. Control SD ラットの肝臓へパルミチン酸溶液を注入し、注入 24 時間後に肝臓組織を採取し、肝線維化に関連する細胞内分子を real-time RT-PCR 法、免疫染色で評価した。

本研究の被験者はインフォームドコンセントが提供され、研究プロトコルは愛媛大学の倫理委員会によって承認されている（承認番号 1407006、UMIN #000014792）。動物実験は、愛媛大学動物実験委員会によって承認されている（承認番号：O5TI81-2）。

[結果と考察]

NASH 患者では対照者と比較して食後の血中パルミチン酸濃度が上昇することを、食餌前後に採取した血液検体を用いた脂肪酸分画測定で確認した。この結果から、NASH 患者では腸管におけるパルミチン酸吸収が変化している可能性が示唆された。

続いて、ラットの腸管を介したエマルジョン化したパルミチン酸の注入実験の結果、NASH ラットでは食後の血中のカイロミクロン粒子数、カイロミクロン内に含有されるトリグリセリド濃度、血中パルミチン酸濃度が上昇することが確認された。また、空腸組織を用いた腸管における長鎖脂肪酸の吸収に関連する因子の解析では、NASH ラットでは腸管腔から腸細胞内への長鎖脂肪酸の取り込みに関連する CD36 や腸細胞の小胞体内でカイロミクロン形成に関与する Microsomal triglyceride transfer protein (MTP) 等の発現が増加していた。これらの結果から NASH ラットの腸管では食餌性パルミチン酸の吸収が亢進し、より多くのパルミチン酸が直接肝臓に流入していることが明らかとなった。

さらに、Control ラットの肝臓へのパルミチン酸溶液注入実験の結果、パルミチン酸注入によって肝線維化に関与する肝星細胞の活性化を反映する α -SMA、TGF- β 、collagen 1a1 など、肝線維化に関わる遺伝子の発現増加がみられ、肝臓に流入したパルミチン酸が肝線維化に寄与すると考えられた。

これらの結果から NASH モデルラットでは腸管におけるパルミチン酸の吸収が増加しており、直接肝臓に流入するパルミチン酸が増加するとともに、肝線維化を進行させ、NASH の病態形成と進展に重要な役割を果たすことが示された。

[結論]

NASH 患者では食後の血中パルミチン酸濃度が上昇し、NASH モデルラットでは腸管におけるパルミチン酸の吸収が増加していた。また、吸収されたパルミチン酸は肝臓に直接流入し、肝星細胞を活性化して、肝線維化に寄与することが明らかとなった。NASH 患者で吸収が亢進するパルミチン酸が NASH の病態進展に関わることから、同患者における腸管でのパルミチン酸吸収の制御が新たな治療法の開発につながる可能性がある。

キーワード（3～5）	非アルコール性脂肪肝炎（nonalcoholic steatohepatitis; NASH） パルミチン酸 CD36 Microsomal triglyceride transfer protein (MTP) 肝星細胞
------------	---